全球暖化下台灣耐逆境水稻之育種策略及發展

林彥蓉[1]　郭素真[2]　吳永培[2,*]

[1]國立台灣大學農藝系　[2]農委會農業試驗所嘉義分所

[*] 通訊作者，E-mail: wuypei@dns.caes.gov.tw

摘 要

全球暖化導致氣候發生變遷，造成諸如 1.氣候帶及農業帶向兩極移動。2.大氣中 CO_2 濃度增加，溫室效應加遽。3.土壤水分缺乏及質地劣化。4.極端氣候促使農業氣候災害發生 5.作物生長發育發生障礙，糧食生產減少。6.病蟲害的發生頻率提高等。這些情形將對全球許多國家的稻米生產造成不同的影響，尤其高溫及缺水將導致水稻產量發生重大損失，解決之道唯有透過適當有效的育種策略的運作，創造適應環境壓力之水稻新品種，如此方能確保未來水稻產業能有效永續的經營。

因應全球暖化之耐逆境水稻育種，其內函以耐旱、耐熱、耐鹽、耐冷、耐淹、耐土壤劣化及耐生物性逆境爲主，內容相當廣泛且複雜，因此本文乃整理數年來在耐逆境水稻之研究心得，針對水稻耐逆境育種策略提出 1.種原材料之蒐集、評估與利用 2.建立耐逆境水稻之評估技術 3.耐逆境稻之傳統育種方法 4.耐逆境基因圖譜定位及分子輔助育種等研究架構與進展，藉以供國內水稻育種家參考應用；其中在耐逆境種原以陸稻、國外引進栽培種及化學誘變選育爲重點，尋出適合台灣利用之種原，結果包括 18 個秧苗期具耐旱性之陸稻、12 個栽培稻，而誘變創育則介紹 CNY911303、CNY911363 及 IR64 等誘變庫之篩選進展，目前已選育數十個於耐鹽、耐旱、耐冷及耐熱上具耐受性之突變系；又文中亦介紹耐旱及耐鹽幼苗期篩選方法、耐旱及耐鹽基因圖譜定位之流程及研究近況，包括初步定位 SM61 之耐鹽基因 ST1 於第 8 染色體，耐旱基因 QTL 於第 12 條染色體。而最後則對於耐逆境水稻分子標幟輔助育種的流程，以耐鹽基因轉移至 IR64；耐旱 QTL 轉移至台粳 9 號與 CNY911303 爲例，架構台灣未來耐逆境水稻 MAS 的育種模式，提供未來快速選育耐逆境水稻新品種利用。水稻耐逆境特性大都是多基因遺傳控制，與環境間存在著顯著的交感效應，造成研究及育種的成效不彰，故展望未來台灣對於耐逆境水稻的開發利用，重點在找出與逆境相關的 QTL，進而設計功能性之分子標幟，以高效率 MAS 之育種模式降低環境效應之影響，如此方能有效提升台灣耐逆境水稻的育種效率。

前 言

根據世界氣象組織統計報告指出，全球地表溫度年平均值在過去百年間上升約 0.5～0.6℃，顯示近年來全球暖化的(global warming)現象有逐漸加劇的情形，而此趨勢對各地氣候將造成明顯的影響，諸如降雨型態改變，農作物生產、動物遷移習性、傳染病發生率與人類健康等均受到影響。而同樣臺灣在全球暖化背景下，無可避免的亦會受到重大衝擊，因台灣地區亦出現暖化現象，其暖化趨勢過去百年間升溫約 1.0～1.4℃，是全球平均值的 2～2.5 倍，顯示台灣地區暖化的趨勢較之全球情形更爲嚴重，台灣地處於農業容易受全球變暖的影響地帶，根據農業科學家總結的經驗法：在生長過程的重要階段，諸如授粉期及穀粒充實期，氣溫在攝氏 35 度以上時，溫度每升高 1 度，作物收成減少大約 10%。而台灣主要栽培的糧食作物---水稻，其對日夜溫均相當敏感，在攝氏 40 度條件下會導致光合作用關閉，生長發育受阻，故應積極投入對環境等非生物性逆境水稻之研發，以利台灣農業因應暖化時代的來臨。

全球暖化對農業之影響

由於全球暖化是廣泛的趨勢，其中對農業之影響大致上可歸納爲：

1. 氣候帶及農業帶向兩極移動之影響：暖化會使不同的氣候帶發生移動，且趨勢日益明顯，尤其是農業及畜牧業因此發生改變，進而造成十分巨大的影響，如小麥栽培北移至加拿大、俄羅斯等原來冰封的地帶，而原來的小麥主要栽培帶卻可能因此而消失。
2. 大氣中 CO_2 濃度之影響：CO_2 濃度增加會使主要糧食作物，諸如小麥、水稻、大麥、豆類等，總計約有 16 種 C_3 作物產量有顯著增加的可能。然而增產的效果卻會因溫室效應所帶來的環境溫度升高，使得作物生長發育受阻，讓產量有不增反減的現象出現。
3. 土壤水分及質地之影響：温室效應將引起高緯度地帶降雨減少，而低緯度或赤道區降雨增加，形成土壤水分含量分布發生改變。尤其較暖的氣候或乾旱時，會造成土壤中微生物對有機質分解速度加快，使得土壤中有機質的減少，導致土壤質地日益惡化。此外暖化會使鹽化趨勢更形惡化，且因極端氣候所帶來含鹽分之雨水、海平面上升、地層下陷及土壤鹽化等因素，促使土壤鹽化情形雪上加霜。
4. 對農業氣候災害的影響：由於氣候暖化可能造成極端氣候發生頻率大爲提高，諸如異常乾旱、高溫、淹水、風暴、冷害、寒害等，因此未來作物對極端氣候的損害及防災措施會更加嚴峻。
5. 對作物生長發育及病蟲害的之影響：溫度的提升會使農作物的生長發育產生巨大的

影響，而高溫也會使作物生長積溫快速累積，造成作物有效生長期縮短，產量減少。至於病蟲害發生率亦會改變發育的起始期，使得發生時期提前或延後，或又因溫度的提升使一年中病蟲害的繁殖代數增加，或因新的環境條件使得不同類型的病蟲害出現，造成作物受到危害的頻率大幅提高。

6. 對台灣水稻產業之影響：台灣屬於海島型國家，可耕作面積相當有限而珍貴，而分析氣候暖化後對台灣地區糧食作物生產之影響，台灣水稻產區之中南部的年雨量將會減少，灌溉用水終將受到限制，至於二氧化碳濃度增高對作物生產潛在的效益，將因溫度升高及病蟲害損失增加而抵消。而因爲溫度升高加速土壤有機質的分解，使得化學肥料會因生產需要而增加用量，且因應病蟲害威脅增高，農藥防治費用將更爲提升，致使農地的生產力因土壤質地劣化而減損。其中台北及台中地區在 2050 年預計水稻減產 10%，2080 年 20%，台南及台東預測結果反而略有增加。至於雜糧方面，玉米將會減產 10~20 %、小麥減產 7~8%。水稻占全台灣作物種植面積第一位，顯示水稻在台灣糧食供應上的重要性，因此針對暖化對水稻產業影響之探討，將可對台灣農業的穩定與永續發展提供正面且重要訊息。

全球暖化下台灣水稻育種之因應策略

因應氣候變遷未來水稻主要研究策略首重耐逆境水稻新品種的育成，根據氣候變遷對水稻之影響及耐逆境特徵點，水稻新品種發展方面就其耐逆境水稻之內函，可區分耐生物性逆境及耐非生物逆境二大方面，其中前者包括爲耐旱、耐鹽、耐熱、耐冷、耐低氮、耐倒伏、耐穗上發芽及耐淹水稻等，而後者主要包括抗病(耐病)水稻，諸如稻熱病、白葉枯病、紋枯病、而抗蟲(耐蟲)水稻主要包括褐飛蝨、斑飛蝨、白背飛蝨、瘤野螟(縱捲葉蟲)等項目。並以超高產水稻爲重要發展目標，藉以降低糧食缺乏之危機。就育種策略而言，耐逆境水稻則四個主題，1. 種原材料之蒐集、評估與利用，包括山地陸稻耐逆境特性之利用、國外耐逆境稻種原之利用、誘變創育耐逆境水稻、野生稻耐逆境特性之利用等。2. 耐逆境水稻之評估技術，包括 PEG 模擬水分逆境法、田間秧苗期評估法、田間最高分蘖期及生殖生 長期評估法、產量指標選拔耐旱稻技術。3.建立耐逆境栽培模式，諸如旱稻直播法、水插旱管法、通氣栽培法(看天田)、老秧耐鹽栽培技術、調節播種期栽培。4.耐逆境稻之育種方法，有項有雜交育種法、回交育種法、誘變育種法、分子標誌輔助育種法、基因轉殖法等多個不同育種方式。其育種策略流程圖則如圖 1 所示。其中野生稻及山地陸稻由於受株型及農藝特性之影響，策略上以回交將耐逆境特性逐步轉移至栽培稻中利用爲主要考量，而國外引進之耐逆境水稻則以雜交育種及回交交互使用爲原則，而誘變育種則以耐逆境材料篩選、純化及雜交移轉爲重點。

台灣耐逆境水稻育種之研究進展

依水稻育種策略而言，對耐逆境水稻四個研究主題之進展分述如下：

(一)種原材料之蒐集、評估與利用

1. 野生稻耐逆境特性之利用：主要以 *O. Nivara* 及 *O. Rufipogon* 等一年生或多年生之 AA 染色體組野生稻或澳洲野生稻爲重點，提供耐旱、抗蟲及抗病等特性。
2. 陸稻及地方品種之利用：在陸稻方面評估農試所種原庫中保存之 84 個陸稻品種(系)之耐旱性，於存活 79 個品系中，經水稻三葉齡幼苗期進行 28% PEG6000 處理三天後復水，依國際水稻研究所 (International Rice Research Institute, IRRI) 之水稻標準評估系統手冊 (Standard Evaluation System for rice, SES) (IRRI,2002) 所定鹽害分級標準，依植株葉片捲曲及枯白化程度區分爲 1、3、5、7 及 9 等五個等級，結果發現有 8 個品種呈現抗級反應，11 個呈現耐級反應，合計占 24%。其中表現爲抗級者爲二杯、白占、員粒、烏糯稻、醉樂谷、白米粉、格仔、金門斗門紅米等，而表現呈耐級者有、蟻公包、菊花、拍伊鴨烏哇嚕、Muteka、Tahobin、銀魚子 Nabohai、失名陸稻、戰捷、金色糯及烏殼等 11 個。
3. 國外引進耐逆境品種之利用：主要是引進具有耐旱、耐鹽、耐熱、耐淹及耐冷等耐逆境特性，以供轉移至國內栽培稻利用。目前針對國內外 75 栽培稻進行耐旱性之評估，結果發現引進之國外推廣旱稻，諸如旱育 15、旱育 3、陸 1-陸 4 、CWY981124、93-11、Doddabyranellu、Dhan 4、Doddi、Kasakasth 等 12 個品種呈現 3-5 級之耐旱反應。
4. 化學誘變創育耐逆境稻之利用：主要以國內外優良之栽培稻爲材料，誘變方式以化學誘變爲主，從誘變族群中篩選出各種不同耐逆境類型之突變系，可直接命名利用，亦或提供作爲耐逆境育種親本來源。利用化學誘變法創育 IR64 及台農 67 號背景之耐逆境品系，誘變親本包括 CNY911303 號(台農 67 號香米誘變系)、CNY911363 號等，其中 IR64 誘變族群耐逆境之篩選結果如圖 2 所示，在耐旱性篩選上，目前得到 135 個耐旱品系(3-5 級)，並有 8 個品系耐旱等級達到抗級(3 級)。而耐冷性篩選則有 8 個植株存活，占 0.395%；幼苗期耐熱則有 118 株存活，占 5.9%，至於開花期耐熱性則有 42 株存活，佔 4.67%；再者，利用粳稻嘉農育 911303 號 EMS 誘變系，結果選育高耐鹽系 SM61， SM75、SM76 及 SM77 等，耐鹽等級可達 3-5 級，而 SM143 等 3 個呈現中度耐鹽品系，世代達 M14 世代。至於秈稻利用 IR64 突變族群亦篩選出 18 個耐鹽系(1001SM1-1001SM18)，世代達 M5 世代。結果顯示利用化學誘變手法，確實可創育耐逆境水稻種原，供國內外利用。

(二)耐逆境評估技術之建立

1. 耐旱秧苗期篩選技術

採用改良式木村氏 B 水耕液配方(Yoshida et al. 1976)進行水耕液中培育秧苗 14 天，待秧苗達 3-4 葉齡，施以添加 15 20、25、28%之 PEG 6000 於水耕液進行水分逆境處理，並以栽培品種及旱育 15 號進行測試，在處理 12 小時調查耐旱等級，直到 96 小時截止；結果發現在處理 72 小時耐旱品種耐旱等級達 3-5 級、敏感品種達 7 級時開始復水(不含 PEG 6000 水耕液培養)，由於大部份耐旱品種均存活恢復，而敏感品種 TCS17 等則會陸續死亡(圖 3)，顯示本技術可於水稻耐旱性選拔中利用。

2. 耐鹽秧苗期篩選技術

同樣採用改良式木村氏 B 水耕液配方(Yoshida et al. 1976)進行水耕液中培育秧苗 21 天，待秧苗達 5 葉齡，施以添加 200mM 之 NaCl 溶液於水耕液中進行鹽分逆境處理，並以高耐鹽品系 SM61 及 IR64(敏感型)進行測試，結果發現在處理 120 小時耐鹽品系耐鹽等級 3-5 級、敏感品種達 7 級開始復水(0.5 倍不含鹽分水耕液培養)，大部份耐鹽植株均存活恢復，而敏感品種 IR64 等則會陸續死亡(圖 4)。

(三)耐旱及耐鹽水稻之基因圖定位進展

1. 幼苗期耐旱特性之基因圖譜定位

以 CNY922301/HanYu15 之 F2 族群爲材料，其中 CNY922301 爲敏感型之粳稻香米品系，而 HanYu 15 爲耐旱等級 3-5 級之籼稻品種；參試水稻材料於秧苗期 3 葉齡時，以 28%之 PEG6000 處理 3 天，其後取 92 個耐旱 F2 之葉片進行 172 個 SSR 分子標幟分析，最後再進行耐旱特性與 SSR 之關連性解析。結果如圖 5 所示，利用 92 個 F2 耐旱植株進行 172 個 SSR 標幟分析，每一分子標幟的平均距離約 15cM 以下，因此若耐旱基因與 SSR 間存在連鎖關係時，則 92 個 F2 的基因型大部份會出現 HanYu15 的基因型，否則會依孟德爾遺傳之分離模式表現，經初步 coarse mapping 結果，顯示於染色體 12 之長臂及短臂上分別存在耐旱基因 ST1 及 ST2 等兩個 QTL。未來我們將繼續進行精細定位，並利用同遺傳背景系的方式，逐步逼近基因，進而將耐旱基因進行選殖與定序

2. 幼苗期耐鹽特性之基因圖譜定位

利用 SM61/TCS17 之 F2 族群爲材料，其中 SM61 爲抗鹽之粳稻香米品系，而 TCS17 爲敏感型之籼稻品種；參試水稻於秧苗達 5 葉齡時，以 200 mM 之 NaCl 溶液處理 5 天，其後取 46 個耐鹽 F2 之葉片進行 81 個 SSR 分子標幟分析，最後再進行耐鹽特性與 SSR 之關連性解析。結果如圖 6 所示，利用 46 個 F2 耐鹽植株進行 81 個 SSR 標幟分析，每一分子標幟的平均距離約 20cM 以下，因此若耐鹽基因與 SSR

間存連鎖關係時，則 46 個 F2 的基因型會出現 SM61 的基因型，否則會依孟德爾遺傳的分離模式表現，經初步 coarse mapping 結果顯示依粗定位及細定位結果耐鹽基因 ST1 與 RM302、RM7180 (染色體 1)、RM223(染色體 8)及 RM19 (染色體 12)等有共同分離現象(圖 6)；於基因存在的區域設計高密度的 SSR 或 Indel 標誌，進一步精確定位耐鹽基因所在位置，並藉由重組體發生的情形，預測基因可能存在的區域，進一步縮小耐鹽基因在染色體上的目標區域範圍後，再根據圖譜位置選殖的方式，進行目標區域存在基因的定序工作，最後檢視定序基因與台農 67 號基因序列的差異，了解基因的突變位點，完成基因圖譜定位及定序工作(圖 7)。

(四)耐逆境水稻分子標幟輔助育種策略

隨著分子標幟的進步及發展，遺傳控制複雜的農藝特性，諸如耐旱性可藉由分子標幟的協助，針對耐旱基因於後代中的分佈進行追踪，而不用針對特性進行測量與評估，節省大量的田間需求及人力的投入，亦提高了選拔的準確性；水稻耐逆境特性大都是多基因遺傳控制，與環境間存在著顯著的交感效應，造成研究及育種的成效不彰，故展望未來台灣對於耐逆境水稻的開發利用，重點在找出與逆境相關的 QTL，進而設計功能性之分子標幟，以高效率 MAS 之育種模式降低環境效應之影響，如此方能有效提升台灣耐逆境水稻的育種效率。

針對如何進行耐逆境水稻之分子育種，加速新品種之育成，觀察目前國內在耐逆境之發展現況，似仍應以分子標幟輔助回交選種法(MSB)是較適當的策略，其流程如圖 8 所示，初期仍以篩選於兩親間具多形性之 SSR 標幟爲重點，以提供回交過程中背景選拔使用。而在已找到與耐逆境特性連鎖之分子標幟的情形下，可於回交後代中先以功能性的分子標幟進行前景選拔，於選出帶有耐逆境之回交後代，再利用多形性之 SSR 標幟來進行背景篩選，選出與輪迴親最相近之回交後代，增加恢復輪迴親遺傳背景之速度，如此於 BC_2F_4 便可提出新品種命名， 3 年內便可選育出耐逆境之水稻新品種。如圖 9 所示，筆者將秈稻泸旱 15，以 MSB 的方式將耐旱特性轉移至粳稻台粳 9 號及 CNY911303(台農 67 號誘變系)中，目前已完成至 BC_2F_1 之前景及背選拔，預計於 2013 年便選育出耐旱之台粳 9 號及台農 67 號新品種。

在無與耐逆境特性連鎖的分子標幟可資利用的情形下，則可直接利用具多形性之 SSR 標幟來進行背景篩選，選出與輪迴親最相近之回交後代，增加恢復輪迴親遺傳背景之速度，於 BC_2F_4 便可提出新品種命名，3-4 年內即可選育出耐逆境之水稻新品種。筆者將粳型稻 SM61，以 MSB 的方式將耐鹽特性轉移至 IR64 號中，並於回交過程中配合耐鹽篩選及 SSR 之背景選拔，目前已完成至 BC_3F_3 世代，預計於 2012 年即可選育出耐鹽之 IR64 新品種(圖 10)

結語

近年來國外學者已針對諸如耐旱、耐鹽、耐熱、耐寒、耐淹及抗病蟲害等逆境研究投入相當大的資源，積極尋找不同抗性種源，更全力發展分子標幟輔助選拔，期以分子技術的手段短期內對各種水稻逆境相關因子進行開發與利用。而國內農業機構目前仍以良質米育種及相關研究爲主要標的，對水稻逆境材料的開發及利用，缺乏完整且深入的著墨，對逆境之分子基礎、生理機制及育種選拔更僅屬於起步階段，投入的研究人員及經費均相當有限，也許原因是台灣以往常發生稻米生產過剩的現象，讓大家認爲糧食安全的危機不會發生，然而未來全球糧食供應若發生短缺時，結果將導致台灣糧食進口不足，台灣糧食自給能力非常薄弱。以熱量計算的綜合糧食自給率僅有29%，缺糧危機隨時可能發生。

在全球暖化下，台灣將因高溫、多雨、異常乾旱、土壤質地劣化及病蟲害發生率提高等，造成稻穀產出的降低。然而在暖化逆境下要提高稻穀生產量，進而達到增加糧食供應幾乎是不可能，就全界水稻生產來看，水稻產量在多數已開發國家已達瓶頸階段，唯有有藉助耐逆境水稻的開發與利用，經由增加水稻種植面積來達到增加糧食生產的目的，確保台灣糧食自給自足免於短缺困境，因此未來台灣農業能否永續經營，水稻逆境的研究與發展將扮演關鍵性的角色。

The Breeding Strategies and Developments of Stress Resistant Rice for Global Warming in Taiwan

Yann-rong Lin[1] Su-Chen Kuo[2]and Yong-pei Wu[2,*]

[1]Department of Agronomy, National Taiwan University

[2]Chiayi Agricultrual Experiment Station, Taiwan Agricultural Research Institute

*Corresponding author: E-mail: wuypei@dns.caes.gov.tw

Abstract

Global warming leads to climate changes, such as (1) climate zones and agricultural zones are toward diverse extremes; (2) the rising CO_2 concentration in air promotes global warming dramatically; (3) soil contains insufficient water and deprives nutrients; (4) extreme climate elevates agricultural damage; (5) crop growth and development are impeded resulting the reduction of food production; (6) frequency of insect and pathogen disease increases, and so on. All mentioned above have various influences on rice production in several countries. Raised temperature and insufficient water would reduce rice production severely. To establish new rice varieties facing new environmental stresses by efficient breeding strategies could make effective and sustainable management of rice production.

The rice breeding for acquiring stress tolerance/resistance to face global warming is extensive and complicated, including tolerance to drought, flooding, heat, cold, salt, and deprived soil, and resistance to biotic stresses, and so on. Based on summary of scientific researches these years, we therefore propose breeding strategies for stress tolerances as references for the rice breeders in Taiwan. The strategies encompass (1) collection, evaluation and utilization of germplasm; (2) establishment of phenotype evaluation of stress tolerance; (3) the traditional breeding approaches of stress tolerant rice; (4) research schemes and progresses of linkage maps of tolerant genes and their applications in marker assisted selection (MAS). We focused on landrace, introgressed abroad cultivars, and chemical induced mutants for screening germplasm possessing abiotic stress tolerance, a total of 18 landrace and 12 cultivars were tolerant to drought during the seedling stage, and over dozens of mutant lines, obtained from the mutated populations of CNY 911303, CNY 911363 and IR 64, were tolerant to salt, drought, cold and heat. This report also introduces the screening methods of drought and salt tolerance during the seedling stage, the experimental flow and progress of linkage analyses of

tolerant genes. The salt tolerant gene of SM61, ST1, and one drought tolerant QTL were coarsely mapped on chromosomes 8 and 12, respectively. Finally, we cited how to transfer the salt tolerant gene to IR 64 and the drought tolerant QTL to TK 9 and CNY 911303 as examples to elucidate the breeding procedures of MAS for stress tolerant rice. The platform established here could provide an efficient way to breed new stress tolerant rice varieties in the future. However, most of stress tolerances in rice are regulated by polygene and have significant interaction with environment, leading to difficulties in research and breeding. Exploring QTLs conferring stress tolerance and consequently designing functional markers are crucial for MAS for diminishing environmental effects, which could promote efficiency of breeding stress tolerant rice in Taiwan.

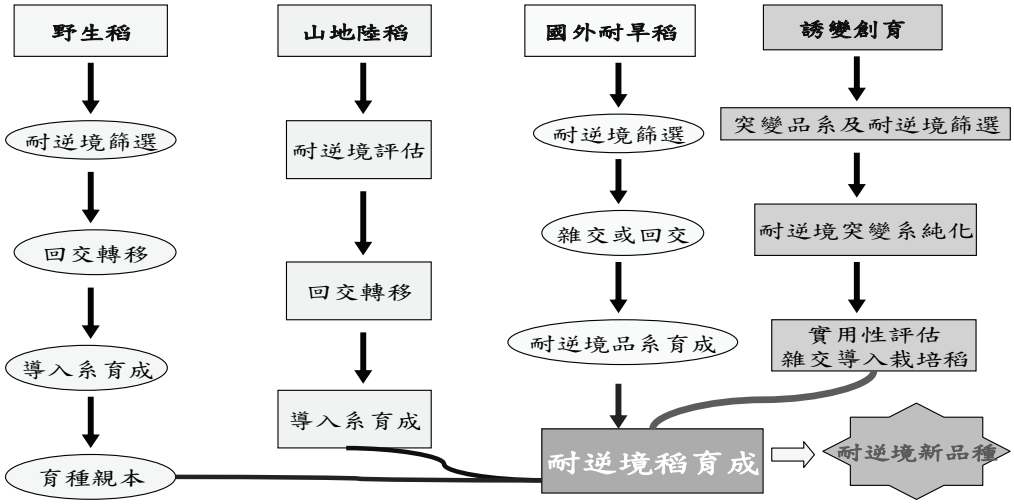

圖 1. 耐逆境水稻之育種策略圖

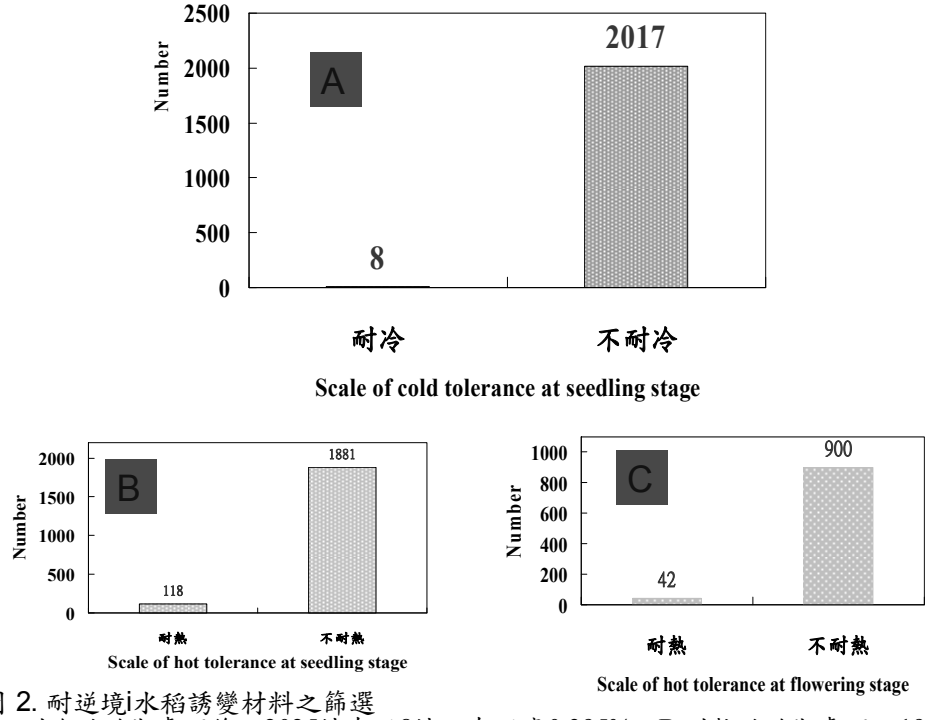

圖 2. 耐逆境i水稻誘變材料之篩選
A.. 耐冷幼苗期處理後，2025株存活8株，存活率0.395%；B 耐熱幼苗期處理，1999株存活118株，存活率5.90%；C. 耐熱開花期處理，種植942株存活42株，存活率4.67%。

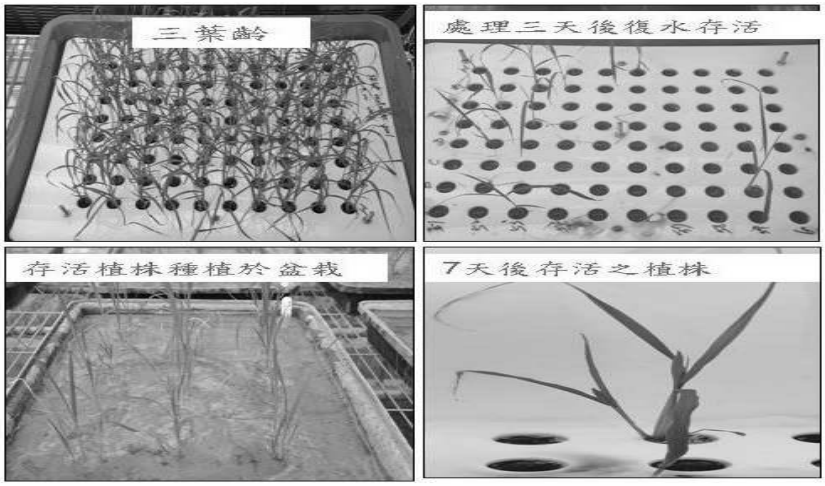

圖 3. 耐旱秧苗期篩選技術

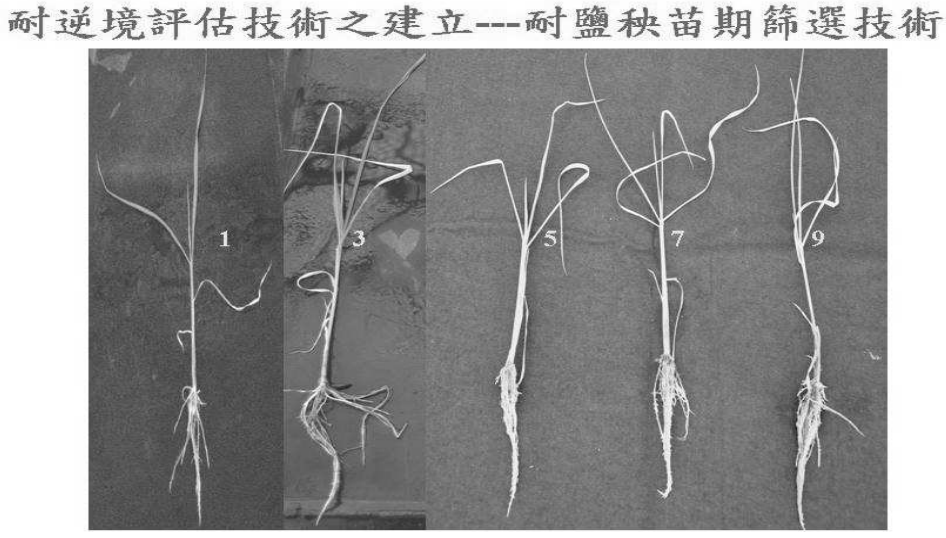

圖 4. 水稻秧苗耐鹽性調查。1：植株葉片捲曲或下位葉黃化。3：植株葉片端乾枯白化。5：植株葉片約1/2 乾枯白化。7：植株葉片2/3 乾枯白化。9：植株完全白化枯死。

參考修改國際水稻研究所 (International Rice Research Institute, IRRI) 之水稻標準評估系統手冊 (Standard Evaluation System for rice, SES) (IRRI,2002) 所定鹽害分級標準，於秧苗苗齡達 5 葉齡時進行處理五天後復水，依植株葉片捲曲及枯白化程度區分為 1、3、5、7 及 9 等五個等級。進行目視調查並紀錄鹽害指數

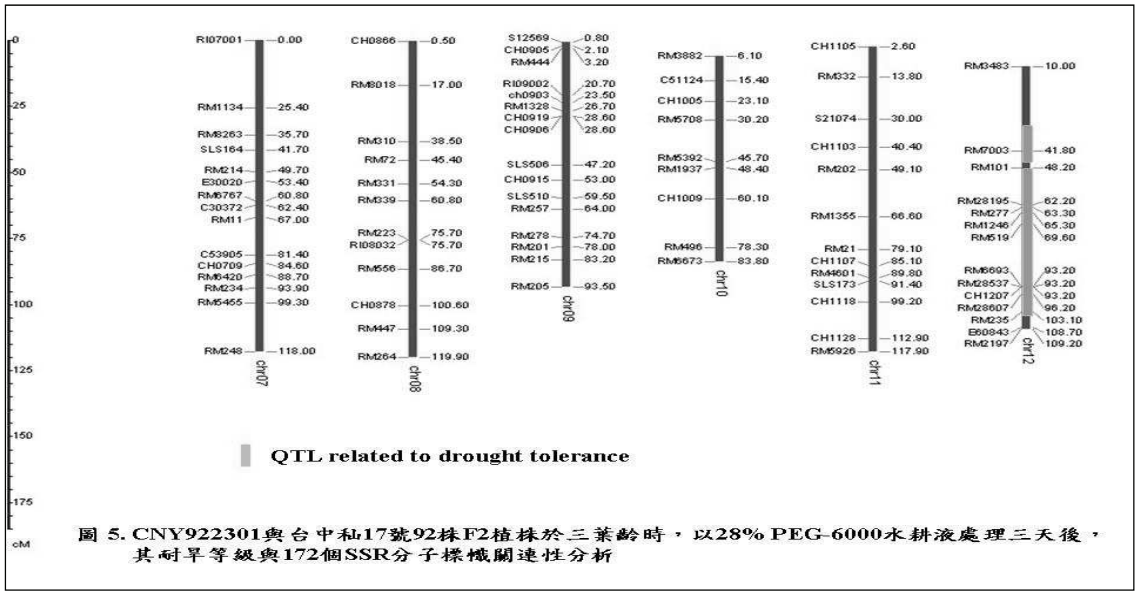

圖 5. CNY922301與台中秈17號92株F2植株於三葉齡時，以28% PEG-6000水耕液處理三天後，其耐旱等級與172個SSR分子標幟關連性分析

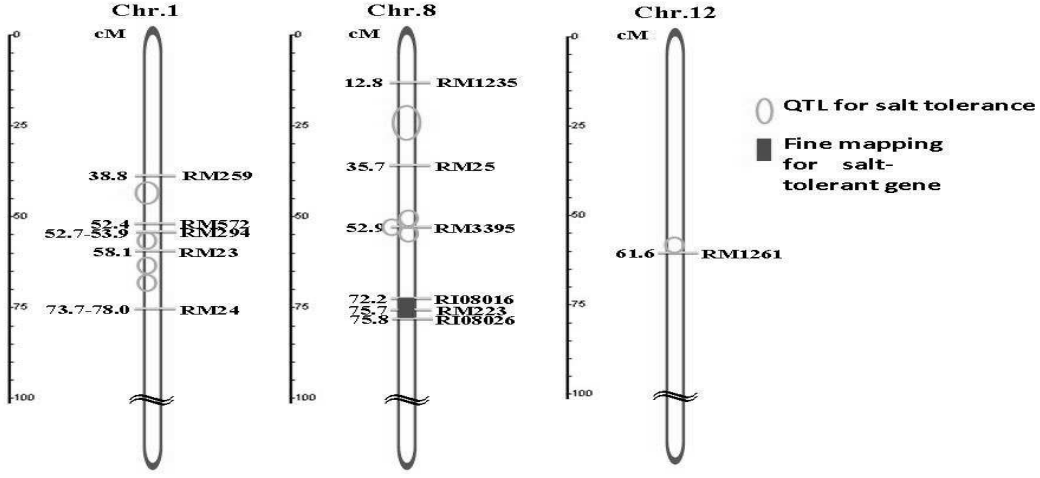

圖 6.耐鹽基因之細定位

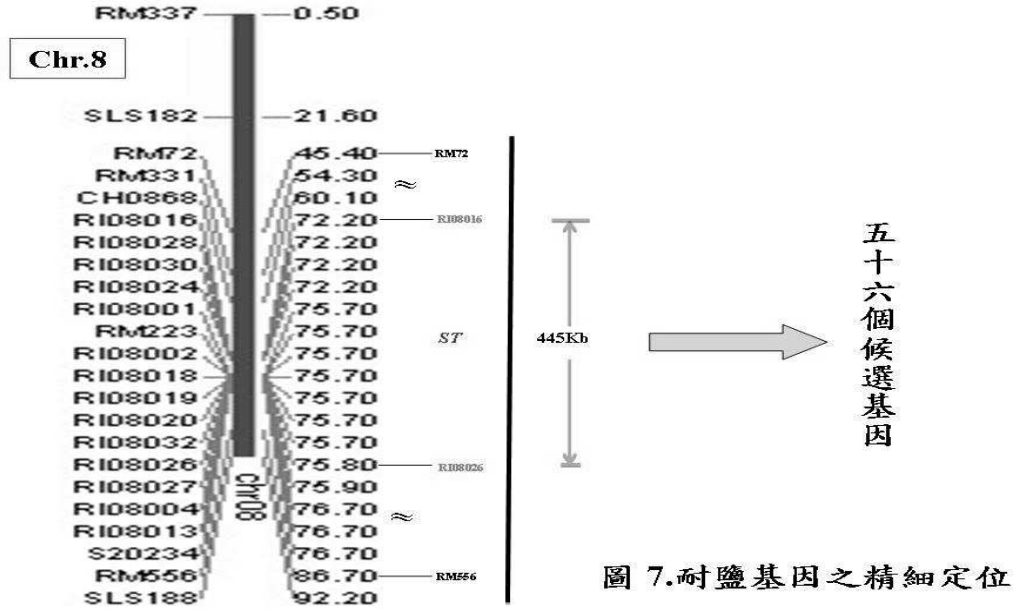

圖 7.耐鹽基因之精細定位

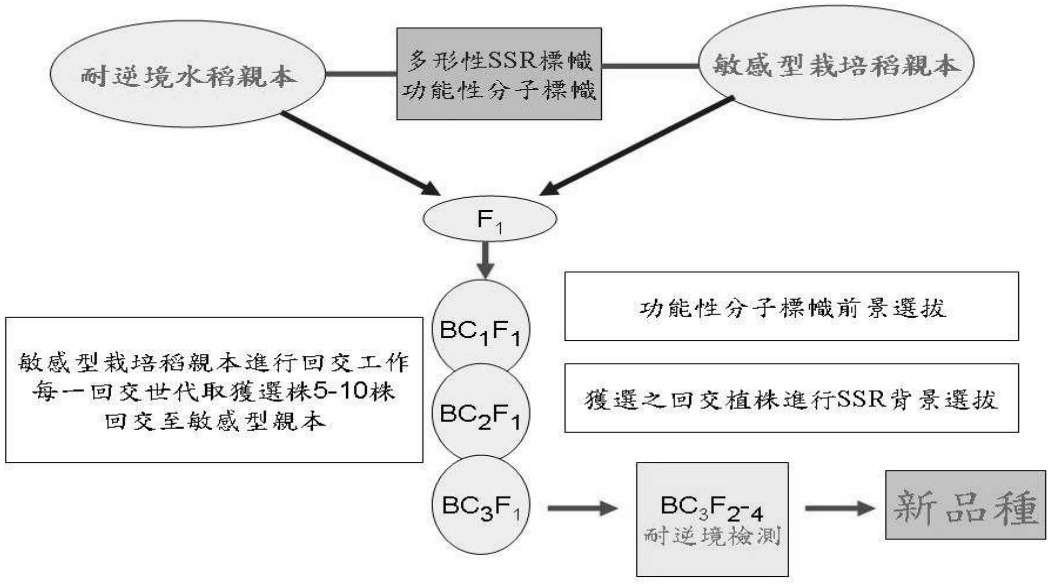

圖 8.耐逆境水稻分子標幟輔助育種策略圖

圖 9. 耐旱之分子標幟選育流程

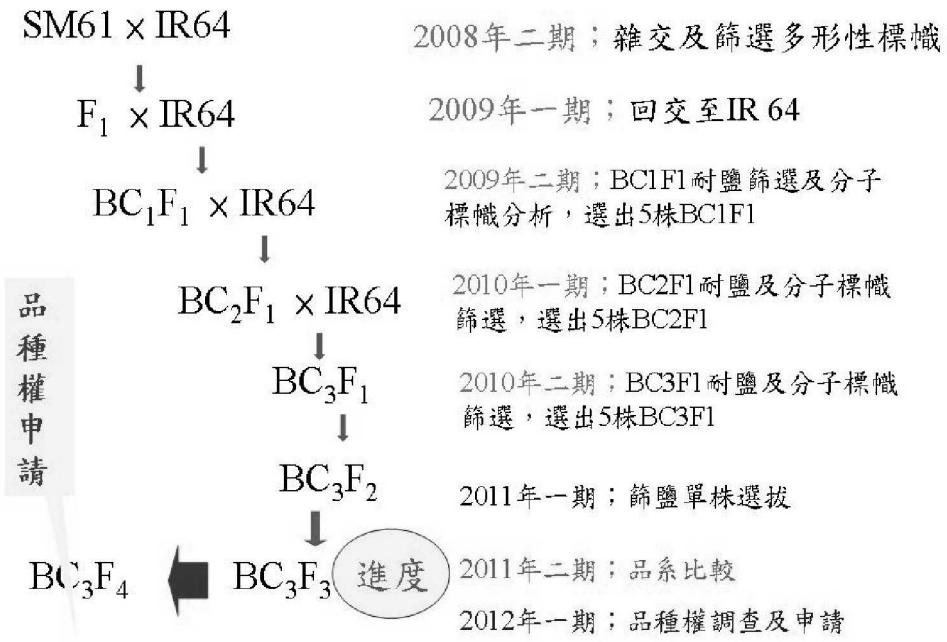

圖 10.耐鹽水稻分子標幟輔助選拔